

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication : 2 746 642  
(à utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : 96 03818

(51) Int Cl<sup>6</sup> : A 61 K 7/48, A 61 K 35/74

(12)

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 27.03.96.

(71) Demandeur(s) : L'OREAL SOCIETE ANONYME — FR.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : 03.10.97 Bulletin 97/40.

(72) Inventeur(s) : BRETON LIONEL, DE LACHARRIERE OLIVIER et MARTIN RICHARD.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : Se reporter à la fin du présent fascicule.

(73) Titulaire(s) :

(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés :

(74) Mandataire : L'OREAL.

(54) COMPOSITION APAISANTE COMPRENANT UN EXTRAIT BACTERIEN.

(57) L'invention a pour objet une composition cosmétique ou pharmaceutique comprenant un extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique et un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation.

FR 2 746 642 - A1



La présente invention concerne une composition cosmétique ou pharmaceutique, plus particulièrement dermatologique, comprenant un extrait d'au moins une bactérie filamenteuse non photosynthétique et un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation.

5

On sait qu'il existe au niveau cutané de nombreux phénomènes d'intolérance dont les symptômes sont en particulier des signes subjectifs, qui sont essentiellement des sensations dysesthésiques. On entend par sensations dysesthésiques des sensations plus ou moins douloureuses ressenties dans une zone cutanée 10 comme les picotements, fourmillements, démangeaisons ou prurits, brûlures, échauffements, inconforts, tiraillements, etc.

Ces phénomènes peuvent être la conséquence d'événements multiples dont les plus banaux seront qualifiés d'irritation ou d'inflammation, mais dont certains 15 seront dus à des causes physiologiques, comme les peaux sensibles, voire même pathologiques comme par exemple, l'allergie.

Une peau sensible est une peau irritable et/ou réactive qui réagit par un prurit, c'est-à-dire par des démangeaisons, ou par des picotements, à différents facteurs 20 tels que l'environnement, les émotions, les aliments, le vent, les frottements, le rasoir, le savon, les tensioactifs, l'eau dure à forte concentration de calcaire, les variations de température ou la laine. En général, ces signes sont associés à une peau sèche avec ou sans dartres ou à une peau qui présente un érythème.

25 Mais, la peau sensible peut également réagir par des sensations d'échauffement, de tiraillements, de fourmillements et/ou de rougeurs, à différents facteurs tels que l'environnement, les émotions ou les aliments. En général, ces signes sont associés à une peau hyperséborrhéique ou acnéique, avec ou sans dartres. Là encore, ces signes sont souvent associés à un érythème.

30

Ces phénomènes peuvent être généralisés à l'ensemble du corps, mais la plupart du temps ils peuvent avoir des localisations bien définies telles que par exemple le cuir chevelu, le visage, les plis cutanés, etc.

Les cuirs chevelus dits "sensibles" ont une sémiologie clinique plus univoque : les 35 sensations de prurit et/ou de picotements et/ou d'échauffements sont essentiellement déclenchés par des facteurs locaux tels que frottements, savon, tensioactifs, eau dure à forte concentration de calcaire, shampooings ou lotions. Ces sensations sont aussi parfois déclenchées par des facteurs tels que

l'environnement, les émotions et/ou les aliments. Un érythème et une hyperséborrhée du cuir chevelu ainsi qu'un état pelliculaire sont fréquemment associés aux signes précédents.

- 5 Dans certaines régions anatomiques comme les grands plis (régions inguinales, génitale, axillaires, poplitées, anale, sous-mammaires, plis du coude) et les pieds, ces réactions d'intolérance se traduisent par des sensations prurigineuses et/ou des sensations dysesthésiques (échauffement, picotements) liées en particulier à la sueur, aux frottements, à la laine, aux tensioactifs, à l'eau dure à forte concentration en calcaire et/ou aux variations de température.

10 L'ensemble de ces phénomènes d'intolérance est toujours lié à un processus inflammatoire classique, et plus particulièrement à une réaction inflammatoire de type neurogène puisqu'elle fait intervenir les fibres nerveuses cutanées.

- 15 Une peau allergique est une peau qui réagit à un agent extérieur, un allergène, qui déclenche une réaction d'allergie. Il s'agit alors d'un processus spécifiquement immunologique qui ne se produit que lorsqu'un allergène est présent et qui ne touche que les sujets sensibilisés. Par contre, la résultante finale d'une réaction 20 allergique se traduit également par une réaction inflammatoire aiguë associée généralement à un oedème.

25 Quelque soit le phénomène envisagé, il existe un point commun à tous ces mécanismes qui se traduit par une réaction inflammatoire dont la facette terminale se mesure par la libération par les cellules mastocytaires de la peau d'au moins un médiateur de l'inflammation tels que l'histamine, la sérotonine, l'héparine, les leukotriènes, les prostaglandines, les cytokines, le monoxyde d'azote ou des espèces oxygénées réactives.

- 30 Dans certains cas, comme par exemple les peaux sensibles, l'ensemble du mécanisme est également sous le contrôle des terminaisons nerveuses sensitives qui libèrent des neuropeptides, notamment la substance P et le CGRP.

35 La substance P est un élément chimique polypeptidique (undécapeptide), élaboré et libéré par une terminaison nerveuse. La localisation de la substance P est spécifique des neurones, tant dans le système nerveux central que dans les organes à la périphérie. Ainsi, de très nombreux organes ou tissus reçoivent des afférences de neurones à substance P, il s'agit notamment des glandes salivaires,

de l'estomac, du pancréas, de l'intestin (dans celui-ci, la distribution de la substance P est superposée au plexus nerveux intrinsèque de Meissner et d'Auerbach), du système cardio-vasculaire, de la glande thyroïde, de la peau, de l'iris et des corps ciliaires, de la vessie et bien évidemment des systèmes nerveux central et périphérique.

- Le CGRP, peptide dérivé de la calcitonine (connu sous le nom Calcitonine Gene Related Peptide ou CGRP) est un élément chimique polypeptidique élaboré et libéré par une terminaison nerveuse.
- Au niveau cutané, la localisation du CGRP est spécifique des fibres nerveuses sensitives (fibres C). Ainsi, de très nombreux organes ou tissus reçoivent des afférences de neurones à CGRP, il s'agit notamment des glandes salivaires, de l'estomac, du pancréas, de l'intestin, du système cardio-vasculaire, de la glande thyroïde et de la peau.
- Le but de la présente invention est d'obtenir un effet bénéfique le plus étendu possible dans le traitement de toutes ces affections cutanées et donc de proposer une composition qui agit sur plusieurs composantes de ces affections.
- Ainsi, ce but et d'autres sont atteints par la présente invention qui a pour objet une composition cosmétique ou pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend, dans un milieu cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable, un extrait d'au moins une bactérie filamentueuse non photosynthétique et un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation à l'exception des agents anti-inflammatoires stéroïdiens et non-stéroïdiens.

Parmi les agents anti-inflammatoires stéroïdiens on peut citer à titre d'exemple l'hydrocortisone, le valérate de bétaméthasone ou le propionate de clobétasol.

Par agents anti-inflammatoires non-stéroïdiens, on entend ici les agents anti-inflammatoires tels que décrits par Schorderet et Dayer dans Pharmacologie, "Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques", 1992, chapitre 37, pages 541-561, 2ième édition, Frison-Roche/Slatkine éditeurs. Ils s'agit des acides arylcarboxyliques, comme les dérivés de l'acide salicylique ou les dérivés de l'acide anthranilique, des acides arylalcanoïques, tels que les acides arylacétiques et hétéro-arylacétiques ou les acides arylpropioniques, des acides énoliques, comme les dérivés de la pyrazolone ou les oxicames, et des dérivés

non acides, comme par exemple le bufexamac (Merck Index, 11ième édition (M.I.) 1462), la benzylamine M.I. 1136), l'épirizole (M.I. 3572), la fluproquazone (M.I. 4120) ou la tiaramide (M.I. 9356).

5 Préférentiellement, la composition selon l'invention comprend un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation cutanée en association avec un extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique.

10 Par extrait de bactéries filamentuses non photosynthétiques, on entend aussi bien le surnageant de culture desdites bactéries, la biomasse obtenue après culture desdites bactéries ou encore les extraits de la biomasse obtenus par traitement de cette biomasse.

15 Les extraits de bactéries selon l'invention sont préparés à partir de bactéries filamentuses non photosynthétiques telles que définies selon la classification du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 3, sections 22 et 23, 9<sup>e</sup>édition, 1989), parmi lesquelles on peut citer les bactéries appartenant à l'ordre des Beggiatoales, et plus particulièrement les bactéries appartenant aux genres Beggiatoa, Vitreoscilla, Flexithrix ou Leucothrix.

20 Les bactéries qui viennent d'être définies et dont plusieurs ont déjà été décrites ont généralement un habitat aquatique et peuvent être trouvées notamment dans des eaux marines ou dans des eaux thermales. Parmi les bactéries utilisables, on peut citer par exemple :

25                   *Vitreoscilla filiformis* (ATCC 15551)  
                  *Vitreoscilla beggiatoïdes* (ATCC 43181)  
                  *Beggiatoa alba* (ATCC 33555)  
                  *Flexithrix dorotheae* (ATCC 23163)  
30                   *Leucothrix mucor* (ATCC 25107)  
                  *Sphaerotilus natans* (ATCC 13338)

Préférentiellement, on utilise selon l'invention une souche de *Vitreoscilla filiformis*.

35 Pour préparer l'extrait selon l'invention, on peut cultiver lesdites bactéries selon les méthodes connues de l'homme du métier, puis les séparer de la biomasse obtenue, par exemple par filtration, centrifugation, coagulation et/ou

lyophilisation.

On peut notamment préparer les extraits utilisables selon l'invention, selon le procédé décrit par la demanderesse dans la demande de brevet WO-A-93/00741.

- 5 Ainsi, après culture, les bactéries sont concentrées par centrifugation. La biomasse obtenue est autoclavée. Cette biomasse peut être lyophilisée pour constituer ce que l'on appelle l'extrait lyophilisé. Toute méthode de lyophilisation connue de l'homme du métier est utilisable pour préparer cet extrait.  
La fraction surnageante de cette biomasse peut également être filtrée dans un  
10 récipient stérile pour éliminer les particules en suspension. On obtient ainsi l'extrait dénommé par ailleurs dans le texte extrait aqueux.

Un exemple de préparation d'extrait utilisable selon l'invention est donné par ailleurs dans les exemples.

- 15 La quantité d'extrait contenue dans la composition de l'invention est bien entendu fonction de l'effet recherché. Elle depend également de la forme de l'extrait utilisé dans la composition (extrait aqueux, lyophilisé, ...). Elle peut donc varier dans une large mesure.

- 20 Pour donner un ordre de grandeur, si la composition est une composition cosmétique elle peut contenir un extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique en une quantité représentant de 0,0001% à 5% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,001% à  
25 1% du poids total de la composition.

- Pour donner un ordre de grandeur, si la composition est une composition pharmaceutique elle peut contenir un extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique en une quantité représentant de 0,0001% à 10% du poids  
30 total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 5% du poids total de la composition.

- Le composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation est de préférence choisi parmi les antagonistes de substance P et/ou de CGRP, les inhibiteurs de NO-synthase, les antagonistes de bradykinine, les antagonistes de cytokines, les antagonistes d'histamine, les antagonistes du facteur de nécrose tumorale de type  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ).

- Par antagoniste de substance P, on entend tout composé susceptible d'inhiber partiellement, voire totalement, l'effet biologique de la substance P.
- Particulièrement, pour qu'une substance soit reconnue comme un antagoniste de substance P, elle doit induire une réponse pharmacologique cohérente (incluant ou non sa fixation au récepteur de la substance P) notamment dans l'un des tests suivants :
- la substance antagoniste doit diminuer l'extravasation du plasma au travers de la paroi vasculaire induite par la capsaïcine ou par une stimulation nerveuse antidromique, ou bien
- 10 - la substance antagoniste doit provoquer une inhibition de la contraction des muscles lisses induite par l'administration de substance P.
- Par exemple, selon l'invention, on peut utiliser un ou plusieurs antagonistes de substance P choisis parmi les peptides, les composés non peptidiques comme ceux comprenant au moins un hétérocycle, les composés azotés comprenant au moins un cycle benzénique, les sels de cations monovalents, divalents et trivalents, les eaux thermales, et leurs mélanges.
- 15 On peut utiliser dans l'invention par exemple comme peptide antagoniste de substance P le sendide et le spantide II.
- 20 Le sendide correspond à la formule :
- Tyr D-Phe Phe D-His Leu Met NH<sub>2</sub>
- 25 dans laquelle :
- Tyr représente la tyrosine,  
D-Phe représente la D-phénylalanine,  
30 Phe représente la phénylalanine,  
D-His représente la D-histidine,  
Leu représente la leucine,  
Met représente la méthionine.
- 35 Le spantide II correspond à la formule :
- D-NicLys Pro 3-Pal Pro D-CI<sub>2</sub>Phe Asn D-Trp Phe D-Trp Leu Nle NH<sub>2</sub>

dans laquelle :

- D-NicLys représente le nicotinate de D-lysine,  
Pro représente la proline,  
5 3-Pal représente la 3-pyridyl-alanine,  
D-Cl<sub>2</sub>Phe représente la D-dichlorophénylalanine,  
Asn représente l'asparagine,  
D-Trp représente le D-tryptophane,  
Phe représente la phénylalanine,  
10 Leu représente la leucine,  
Nle représente la nor-leucine.

On peut également utiliser dans l'invention, comme peptide antagoniste de substance P, les peptides décrits dans les documents US-A-4472305, 15 US-A-4839465, EP-A-101929, EP-A-333174, EP-A-336230, EP-A-394989, EP-A-443132, EP-A-498069, EP-A-515681, EP-A-517589, WO-A-92/22569 et GB-A-2216529.

20 Les antagonistes de substance P non peptidiques utilisables dans l'invention sont notamment des composés comprenant un hétéroatome lié directement ou indirectement à un cycle benzénique ou contenu dans un hétérocycle. En particulier cet hétéroatome est un atome d'oxygène, d'azote ou de soufre.

25 Comme composé hétérocyclique, on peut notamment utiliser dans l'invention ceux décrits dans les documents suivants : EP-A-360390, EP-A-429366, EP-A-430771, EP-A-499313, EP-A-514273, EP-A-514274, EP-A-514275, EP-A-514276, EP-A-520555, EP-A-528495, EP-A-532456, EP-A-545478, EP-A-558156, WO-A-90/05525, WO-A-90/05729, WO-A-91/18878, WO-A-91/18899, WO-A-92/12151, WO-A-92/15585, WO-A-92/17449, WO-A-92/20676, 30 WO-A-93/00330, WO-A-93/00331, WO-A-93/01159, WO-A-93/01169, WO-A-93/01170, WO-A-93/06099, WO-A-93/09116. En particulier, le composé comprenant au moins un hétérocycle azoté est un dérivé de 2-tricyclil-2-amino-éthane, un dérivé de spiro lactame, un dérivé de quinuclidine, un dérivé azacyclique, un dérivé d'aminopyrrolidine, un dérivé de pipéridine, un 35 aminoazahétérocycle ou un dérivé d'isoindole.

Comme autres composés hétérocycliques, on peut citer les composés hétérocycliques oxygénés ou soufrés tels que les dérivés du furanne, les dérivés

du benzofuranne, les dérivés du thiophène et les dérivés du benzothiophène, comportant éventuellement des substituants azotés, tels que les composés hétérocycliques décrits dans les documents US-A-4931459, US-A-4910317 et EP-A-299457, et plus spécialement les alcoxy- et/ou aryloxy- tétrazolyl-benzofuranne-carboxamides ou les alcoxy- et/ou aryloxy- tétrazolyl-benzothiophène-carboxamides.

5 Comme composés comportant un atome d'azote lié directement ou indirectement à un noyau benzénique, on peut citer ceux décrits dans les documents suivants :  
10 EP-A-522808 et WO-A-93/01165 et WO-A-93/10073.

15 Les sels de cations utilisables dans l'invention sont notamment les sels de strontium, de magnésium, de lanthanides de numéro atomique allant de 57 à 71, de cobalt, de nickel, de manganèse, de baryum, d'yttrium, de cuivre, d'étain, de rubidium, de lithium et de zinc.

20 Ces sels peuvent être par exemple des carbonates, des salicylates, des bicarbonates, des sulfates, des glycérophosphates, des borates, des chlorures, des nitrates, des acétates, des hydroxydes, des persulfates ainsi que des sels d' $\alpha$ -hydroxyacides (citrates, tartrates, lactates, malates) ou d'acides de fruits, ou encore des sels d'acides aminés (aspartate, arginate, glycocholate, fumarate) ou des sels d'acides gras (palmitate, oléate, caséinate, bénénate). De préférence, le sel est choisi parmi le nitrate de strontium, de manganèse, d'yttrium ou de magnésium, le borate de strontium, de manganèse d'yttrium ou de magnésium, le chlorure de strontium, de manganèse ou de magnésium, le sulfate de magnésium, de manganèse ou de strontium. Encore plus préférentiellement, ces sels sont le chlorure ou le nitrate de strontium.

25 30 Parmi les eaux thermales utilisables selon l'invention, on peut citer plus particulièrement les eaux thermales du bassin de Vichy, comme celles provenant des sources Célestins, Chomel, Grande-Grille, Hôpital, Lucas et Parc.

Préférentiellement, selon l'invention, on utilise l'eau de la source Lucas.

35 35 Les antagonistes de substance P peuvent être utilisés seuls ou en mélange.

Par antagoniste du CGRP, on entend tout composé susceptible d'inhiber partiellement, voire totalement, l'effet biologique du CGRP.

Particulièrement, pour qu'une substance soit reconnue comme un antagoniste de CGRP elle doit induire une réponse pharmacologique cohérente (incluant ou non sa fixation au récepteur du CGRP) notamment dans l'un des tests suivants :

- + la substance antagoniste doit diminuer la vasodilatation induite par la 5 capsaïcine et/ou par une stimulation électrique antidromique (appliquée sur un nerf afférent) et/ou
  - + la substance antagoniste doit provoquer une inhibition de la libération de CGRP par les fibres nerveuses sensitives et/ou
  - + la substance antagoniste doit provoquer une inhibition de la contraction 10 du muscle lisse du vas deferens induite par le CGRP.

Parmi les antagonistes du CGRP connus, on peut citer par exemple le CGRP 8-37 (séquence des acides aminés 8 à 37 de la partie N-terminale du CGRP), ou encore les anticorps anti-CGRP.

15

Les antagonistes de CGRP peuvent être utilisés seuls ou en mélange.

20

Le terme NO-synthase recouvre en fait une famille d'enzymes qui, de façon spécifique, assurent la catalyse enzymatique de la L-arginine en citrulline, catalyse au cours de laquelle est produit un médiateur gazeux aux multiples fonctions, le monoxyde d'azote ou NO. Le monoxyde d'azote possède par sa structure un électron supplémentaire le rendant extrêmement réactif chimiquement. Il est notoire que de tels composés sont nocifs et l'on cherche à limiter au mieux leur production. C'est ainsi que dans le cas du monoxyde d'azote 25 les inhibiteurs de NO-synthase ont été largement étudiés.

Ainsi, selon l'invention les inhibiteurs de NO-synthase sont des produits qui permettent *in situ* sur l'homme d'inhiber partiellement, voire totalement, la synthèse de monoxyde d'azote (NO).

30

Ce sont donc des composés choisis parmi les composés inhibant la synthèse et/ou accélérant le catabolisme de la NO-synthase, les composés neutralisant la NO-synthase ou les composés intervenant en diminuant le signal transduit par la NO-synthase.

35

Ainsi, l'inhibiteur de la NO-synthase peut être choisi parmi des peptides, synthétiques ou naturels, éventuellement modifiés, des molécules chimiques, synthétiques ou naturelles, des acides nucléiques antisens, des ribozymes, des

anticorps anti-NO-synthase.

- Parmi ces inhibiteurs de la NO-synthase, on peut citer notamment la N<sup>G</sup>-monométhyl-L-arginine (L-NMMA), la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, l'ester méthylé de la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, le chlorure de diphenylèneiodonium, la 7-nitroindazole, la N(5)-(1-iminoéthyl)-L-ornithine, la N<sup>G</sup>.N<sup>G</sup>-diméthyl-L-arginine, la N<sup>G</sup>.N<sup>G</sup>-diméthylarginine, le [2-(4-carboxyphényle)]-4,4,5,5-tetraméthylimidazoline-1-oxy-3-oxyde, l'aminoguanidine, la canavanine, l'ebselen et l'hormone stimulatrice des mélanocytes de type α.
- 10 Parmi les inhibiteurs de la NO-synthase, on utilise préférentiellement la N<sup>G</sup>-monométhyl-L-arginine et l'hormone stimulatrice des mélanocytes de type α. Les inhibiteurs de la NO-synthase peuvent être utilisés seuls ou en mélange.
- 15 La bradykinine est un peptide d'origine plasmatique libéré à partir d'un précurseur kininogène par une protéase plasmatique du nom de Kallikreine (EC 3.4.21.24). Ce nanopeptide est un des médiateurs clés de l'inflammation et possède des propriétés mitogènes. Les récepteurs pour cette kinine se divisent en deux principaux sous types, B1 et B2. La bradykinine agit notamment, sur le récepteur 20 B2 et provoque la stimulation de nombreux systèmes de production de seconds messagers dont l'hydrolyse des inositol-phosphates, du métabolisme de l'acide arachidonique, la phosphorylation des résidus tyrosine ainsi que la dépolarisation ou l'hyperpolarisation de la membrane cellulaire.
- 25 L'activation de certains récepteurs provoque l'activation de la phospholipase C et donc la production de l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) et de diacylglycérol (DAG). L'IP3 est connu pour provoquer la libération de calcium à partir des sites de stockages intracellulaires dans les cellules dont le kératinocyte. Le calcium, décrit comme activateur et régulateur de nombreuses enzymes (protéases, phospholipases), joue un rôle important dans la régulation de la différenciation et 30 de la prolifération du kératinocyte.
- Par antagoniste de la bradykinine, on entend tout composé susceptible d'inhiber partiellement, voire totalement, l'effet biologique de la bradykinine.
- 35 Particulièrement, pour qu'une substance soit reconnue comme un antagoniste de la bradykinine elle doit induire une réponse pharmacologique cohérente incluant ou non sa fixation au récepteur de la bradykinine.

Ainsi, entre dans cette définition tout composé qui peut interférer avec les effets de la bradykinine par sa fixation au récepteur de celle-ci (B1 ou B2) et/ou tout composé qui indépendamment de la fixation au(x) récepteur(s) induit par un mécanisme quelconque un effet contraire à celui connu de la bradykinine (par exemple interférant avec la synthèse de la bradykinine).

Parmi les antagonistes de la bradykinine, on préfère utiliser des composés inhibant la synthèse et/ou accélérant le catabolisme de la bradykinine, des composés neutralisant la bradykinine, des composés bloquant les récepteurs de la bradykinine tels que ceux qui interfèrent avec les effets de la bradykinine par leur fixation au récepteur de celle-ci (B1 ou B2), des composés inhibant la synthèse des récepteurs de la bradykinine ou des composés intervenant en diminuant le signal transduit par la bradikinine. Ces composés peuvent être d'origine naturelle ou synthétique.

Parmi les antagonistes de la bradykinine, on peut citer plus particulièrement des peptides, synthétiques ou naturels, éventuellement modifiés, comme la D-Arg-[Hyp3, D-Phe7]-bradykinin (NPC567), la [Thi 5, 8, D-Phe7]-bradykinin, la D-Arg, [Hyp3, Thi5,8, D-Phe7]-bradykinin, la N- $\alpha$ -adamantaneacetyl-D-Arg-[Hyp3, Thi5,8, D-Phe7]-bradykinin, la des-Arg9, [Leu8]-bradykinin (tous vendus par la société Sigma) ou encore les composés cités dans les brevets WO 95/08566, WO 95/07294, EP 0623350, EP 0622361, WO 94/11021, EP 0596406, WO 94/06453, WO 94/09001, EP 0578521, EP 0564972, EP 0552106, WO 93/11789, US 5216165, US 5212182, WO 92/17201, EP 0496369, EP 0472220, EP 0455133, WO 91/09055, WO 91/02746, EP 0413277, EP 0370453, EP 0359310, WO 90/03980, WO 89/09231, WO 89/09230, WO 89/01780, EP 0334244, EP 0596406, WO 86/07263 ou la P-guanidobenzoyl-[Hyp3,Thi5,D-Tic7,Oic8]-bradykinin (S 16118) (Feletou M & al., Pharmacol. Exp. Ther., June 1995, 273, 1078-84), la D-Arg-[Hyp3, Thi5, D-Tic7,Oic8]-bradykinine (HOE 140) (Feletou M & al., Eur. J. Pharmacol. 1995, 274, 57-64), la D-Arg-[Hyp3, D-Hyp (trans-propyl)7 Oic8]-bradykinin (NPC 17731) (Herzig M.C.S. and Leeb-Lundberg L.M.F., J. Biol. Chem. 1995, 270, 20591-20598) ou ceux cités dans Bradykinin Antagonists : development and applications (Stewart J.M., Biopolymers, 1995, 37, 143-155), ou encore des molécules chimiques, synthétiques ou naturelles, comme par exemple celles décrites dans Salvino et coll. J. Med. Chem., 1993, 36, 2583-2584.

On peut également utiliser selon l'invention des acides nucléiques antisens ou des ribozymes ayant pour but de sélectivement inhiber la synthèse de la

- bradykinine. Ces acides nucléiques antisens sont connus de l'homme du métier. Ils peuvent agir de différentes manières sur l'ADN ou sur l'ARN messager codant pour la bradykinine, notamment par blocage de la fixation ou de la progression des ribosomes le long de l'ARN messager, par clivage de l'ARN messager par la RNase H, ou en empêchant le transport de l'ARN messager du noyau vers le cytoplasme ou encore en empêchant la maturation de l'ARN messager.
- On peut encore utiliser selon l'invention des anticorps anti-bradykinine ou des récepteurs solubles de la bradykinine, des anticorps anti-récepteurs de la bradykinine ou des antagonistes des récepteurs de la bradykinine.
- Préférentiellement, selon l'invention on utilise un composé qui interfère avec les effets de la bradykinine par sa fixation au récepteur de celle-ci (B1 ou B2), préférentiellement au récepteur B2.
- Encore plus préférentiellement, on utilise selon l'invention un antagoniste de la bradykinine choisi parmi :
- la D-Arg-[Hyp3, D-Phe7]-bradykinin (NPC567),
  - la [Thi 5, 8, D-Phe7]-bradykinin, la D-Arg, [Hyp3, Thi5,8, D-Phe7]-bradykinin,
  - la N- $\alpha$ -adamantaneacetyl-D-Arg-[Hyp3, Thi5,8, D-Phe7]-bradykinin,
  - la des-Arg9, [Leu8]-bradykinin,
  - la P-guanidobenzoyl-[Hyp3,Thi5,D-Tic7,Oic8]-bradykinin (S 16118),
  - la D-Arg-[Hyp3, Thi5, D-Tic7,Oic8]-bradykinine (HOE 140),
  - la D-Arg-[Hyp3, D-Hyp (trans-propyl)7 Oic8]-bradykinin (NPC 17731)
- Le peptide modifié préférentiellement utilisé selon l'invention est la D-Arg-[Hyp3, Thi5, D-Tic7,Oic8]-bradykinine (HOE 140).
- Les antagonistes de bradykinine peuvent être utilisés seuls ou en mélange.
- On sait, par ailleurs, que la substance P libérée par les terminaisons sensitives épidermiques induit une cascade d'événements biochimiques dont les premières étapes se situent au niveau des mastocytes. La fixation de la substance P sur les récepteurs mastocytaires induit une libération de nombreux médiateurs pro-inflammatoires parmi lesquels l'histamine, les cytokines comme l'interleukine 1 (IL1), l'interleukine 6 (IL6), l'interleukine 8 (IL8) et le facteur de nécrose tumorale de type  $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )).

On entend par antagonistes d'histamine, de cytokines et/ou de TNF- $\alpha$ , toutes substances susceptibles d'inhiber la libération et/ou la synthèse et/ou la fixation réceptorielle respectivement d'histamine, de cytokines et/ou de TNF- $\alpha$ .

- 5 Les antagonistes inhibant la fixation réceptorielle de l'histamine sont des agents spécifiques du récepteur de type 1 de l'histamine (H1).

Pour qu'une substance soit reconnue comme un antagoniste réceptoriel d'histamine, de cytokines ou de TNF- $\alpha$ , elle doit répondre à l'une des 10 caractéristiques suivantes :

- avoir une affinité pour les récepteurs spécifiques de ces composés ;
- avoir une activité pharmacologique antagoniste réceptoriel d'histamine, de cytokines ou de TNF- $\alpha$ , c'est-à-dire induire une réponse pharmacologique cohérente dans l'un des tests suivants :
  - + pour les antagonistes réceptoriels d'histamine : une inhibition de la contraction des muscles lisses induite par l'administration d'histamine ;
  - + pour les antagonistes réceptoriels de cytokines: inhibition de l'adhésion de macrophages induite par les cytokines sur les cellules endothéliales ou inhibition de la libération d'anions superoxydes induite par les cytokines sur les neutrophiles ;
  - + pour les antagonistes réceptoriels de TNF- $\alpha$  : inhibition de l'adhésion de macrophages induite par TNF- $\alpha$  sur les cellules endothéliales ou inhibition de la libération d'anions superoxydes induite par TNF- $\alpha$  sur les neutrophiles ou inhibition de l'activité mitogène du TNF- $\alpha$  sur les fibroblastes du derme.

25 Pour qu'une substance soit reconnue comme un antagoniste de la libération et/ou de la synthèse d'histamine, de cytokines ou de TNF- $\alpha$ , elle doit répondre à l'une des caractéristiques suivantes :

- inhibition de la libération d'histamine par des mastocytes stimulés par le 30 composé 48/80 ou stimulés par un ionophore calcique (A23 187)
- inhibition de la libération de cytokines ou de TNF- $\alpha$  par des monocytes (cellules U937) différenciés par un ester de phorbol (PMA).

Les antagonistes réceptoriels d'histamine H1 utilisables dans l'invention sont ceux 35 classiquement utilisés dans les traitements des états allergiques et anaphylactiques ainsi que ceux pour lutter contre le mal des transports. Ces composés peuvent être par exemple des dérivés de la diéthylène diamine comme la Cinnarizine, la cyclizine ; des dérivés de l'aminopropane comme la dexchloro-

phéniramine, la tripolidine ; des dérivés de phénothiazine comme la prométhazine, l'alimémazine ; ainsi que les composés cités pages 116 à 118 du livre Joseph R. Prous, The Year's Drug News, Therapeutic Targets, édition 1994, Prous Science Publishers comme la cétirizine HCl, l'ébastine, la loratadine, la sébastine HCl.

Les inhibiteurs de libération de l'histamine sont notamment des composés hétérocycliques oxygénés ou soufrés tels que les dérivés du furane, les dérivés du benzofurane, les dérivés du thiophène et les dérivés du benzothiophène, comportant éventuellement des substituants azotés, tels que ceux décrits dans les documents US-A-4931459, US-A-4910317 et EP-A-299457, et plus spécialement les alcoxy- et/ou aryloxy- tétrazol-yl-benzofurane-carboxamides ou les alcoxy- et/ou aryloxy- tétrazol-yl-benzothiophène-carboxamides. A titre d'exemple, on peut citer le 5-méthoxy-3-phénoxy-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 5-méthoxy-3-(1-méthyléthoxy)-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 6-méthoxy-3-(1-méthyléthoxy)-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 5-méthoxy-3-(1-méthyléthyl)-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 3-benzyloxy-5-méthoxy-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide et le 5-méthoxy-3-phénoxy-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide.

Parmi les antagonistes de cytokines, on citera par exemple un antagoniste de la libération de l'interleukine 1 utilisable dans l'invention qui peut être l'auranofine ou le SKF-105809 ou encore un antagoniste de la synthèse d'interleukine 1 qui peut être la lactoféline.

Les antagonistes réceptoriels de TNF- $\alpha$  et les inhibiteurs de la libération et/ou de la synthèse de TNF- $\alpha$  utilisables dans l'invention sont en particulier la lisophyline, l'A802715, la sulfasalazine.

Les antagonistes d'histamine, de cytokines et de TNF- $\alpha$  peuvent être synthétisés ou extraits de produits naturels (végétaux ou animaux).

Les antagonistes d'histamine, de cytokines et de TNF- $\alpha$  peuvent être utilisés selon l'invention, séparément ou associés, seuls ou sous forme de mélange.

La quantité de composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation contenue dans la composition de l'invention

est bien entendu fonction de l'effet recherché et peut donc varier dans une large mesure.

- Pour donner un ordre de grandeur, la composition cosmétique de l'invention peut
- 5 contenir un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation en une quantité représentant de 0,001% à 5% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 2% du poids total de la composition.
- Pour donner un ordre de grandeur, la composition pharmaceutique de l'invention
- 10 peut contenir un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation en une quantité représentant de 0,001% à 10% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 5% du poids total de la composition.
- 15 La composition peut être ingérée, injectée ou appliquée sur la peau (sur toute zone cutanée du corps), les cheveux, les ongles ou les muqueuses (buccale, jugale, gingivale, génitale, conjonctive). Selon le mode d'administration, la composition selon l'invention peut se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées.
- 20 Pour une application topique sur la peau, la composition peut avoir la forme notamment de solution aqueuse ou huileuse ou de dispersion du type lotion ou sérum, d'émulsions de consistance liquide ou semi-liquide du type lait, obtenues par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (H/E) ou inversement (E/H), ou de suspensions ou émulsions de consistance molle du type crème ou gel aqueux ou anhydres, ou encore de microcapsules ou microparticules, ou de dispersions vésiculaires de type ionique et/ou non ionique. Ces compositions sont préparées selon les méthodes usuelles.
- 25 Elles peuvent également être utilisées pour les cheveux sous forme de solutions aqueuses, alcooliques ou hydroalcooliques, ou sous forme de crèmes, de gels, d'émulsions, de mousses ou encore sous forme de compositions pour aérosol comprenant également un agent propulseur sous pression.
- 30 Pour l'injection, la composition peut se présenter sous forme de lotion aqueuse, huileuse ou sous forme de sérum. Pour les yeux, elle peut se présenter sous forme de gouttes et pour l'ingestion, elle peut se présenter sous forme de capsules, de granulés de sirops ou de comprimés.

Les quantités des différents constituants des compositions selon l'invention sont celles classiquement utilisées dans les domaines considérés.

- 5 Ces compositions constituent notamment des crèmes de nettoyage, de protection, de traitement ou de soin pour le visage, pour les mains, pour les pieds, pour les grands plis anatomiques ou pour le corps (par exemple crèmes de jour, crèmes de nuit, crèmes démaquillantes, crèmes de fond de teint, crèmes anti-solaires), des fonds de teint fluides, des laits de démaquillage, des laits corporels de 10 protection ou de soin, des laits anti-solaires, des lotions, gels ou mousse pour le soin de la peau, comme des lotions de nettoyage, des lotions anti-solaires, des lotions de bronzage artificiel, des compositions pour le bain, des compositions désodorisantes comprenant un agent bactéricide, des gels ou lotions après-rasage, des crèmes épilatoires, des compositions contre les piqûres d'insectes, 15 des compositions anti-douleur, des compositions pour traiter certaines maladies de la peau comme l'eczéma, la rosasée, le psoriasis, les lichens, les prurits sévères.

- 20 Les compositions selon l'invention peuvent également consister en des préparations solides constituant des savons ou des pains de nettoyage.

Les compositions peuvent aussi être conditionnées sous forme de composition pour aérosol comprenant également un agent propulseur sous pression.

- La composition selon l'invention peut aussi être une composition pour soins 25 capillaires, et notamment un shampooing, une lotion de mise en plis, une lotion traitante, une crème ou un gel coiffant, une composition de teintures (notamment teintures d'oxydation) éventuellement sous forme de shampoings colorants, des lotions restructurantes pour les cheveux, une composition de permanente (notamment une composition pour le premier temps d'une permanente), une lotion 30 ou un gel antichute, un shampooing antiparasitaire, etc.

- La composition peut aussi être à usage bucco-dentaire, par exemple une pâte dentifrice. Dans ce cas, la composition peut contenir des adjuvants et additifs usuels pour les compositions à usage buccal et notamment des agents tensioactifs, des agents épaississants, des agents humectants, des agents de polissage tels que la silice, divers ingrédients actifs comme les fluorures, en particulier le fluorure de sodium, et éventuellement des agents édulcorants 35 comme le saccharinate de sodium.

Lorsque la composition est une émulsion, la proportion de la phase grasse peut aller de 5 % à 80 % en poids, et de préférence de 5 % à 50 % en poids par rapport au poids total de la composition. Les huiles, les cires, les émulsionnants et les coémulsionnants utilisés dans la composition sous forme d'émulsion sont choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine cosmétique. L'émulsionnant et le coémulsionnant sont présents, dans la composition, en une proportion allant de 0,3 % à 30 % en poids, et de préférence de 0,5 à 20 % en poids par rapport au poids total de la composition. L'émulsion peut, en outre, contenir des vésicules lipidiques.

Lorsque la composition est une solution ou un gel huileux, la phase grasse peut représenter plus de 90 % du poids total de la composition.

De façon connue, la composition cosmétique peut contenir également des adjuvants habituels dans le domaine cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les additifs hydrophiles ou lipophiles, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les charges, les filtres, les absorbeurs d'odeur et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées dans le domaine cosmétique, et par exemple de 0,01 % à 10 % du poids total de la composition. Ces adjuvants, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse et/ou dans les sphérolites lipidiques.

Comme huiles ou cires utilisables dans l'invention, on peut citer les huiles minérales (huile de vaseline), les huiles végétales (fraction liquide du beurre de karité, huile de tournesol), les huiles animales (perhydrosqualène), les huiles de synthèse (huile de Purcellin), les huiles ou cires siliconées (cyclométhicone) et les huiles fluorées (perfluoropolyéthers), les cires d'abeille, de carnauba ou paraffine. On peut ajouter à ces huiles des alcools gras et des acides gras (acide stéarique).

Comme émulsionnants utilisables dans l'invention, on peut citer par exemple le stéarate de glycérol, le polysorbate 60 et le mélange de PEG-6/PEG-32/Glycol Stéarate vendu sous la dénomination de Tefose<sup>R</sup> 63 par la société Gattefossé.

Comme solvants utilisables dans l'invention, on peut citer les alcools inférieurs, notamment l'éthanol et l'isopropanol, le propylène glycol.  
Comme gélifiants hydrophiles utilisables dans l'invention, on peut citer les

polymères carboxyvinyliques (carbomer), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylates/alkylacrylates, les polyacrylamides, les polysaccharides tels que l'hydroxypropylcellulose, les gommes naturelles et les argiles, et, comme gélifiants lipophiles, on peut citer les argiles modifiées comme les bentones, les sels métalliques d'acides gras comme les stéarates d'aluminium et la silice hydrophobe, éthylcellulose, polyéthylène.

La composition peut contenir d'autres actifs hydrophiles comme les protéines ou les hydrolysats de protéine, les acides aminés, les polyols, l'urée, l'allantoïne, les 10 sucres et les dérivés de sucre, les vitamines hydrosolubles, les extraits végétaux et les hydroxyacides.

Comme actifs lipophiles, on peut utiliser le rétinol (vitamine A) et ses dérivés, le 15 tocophérol (vitamine E) et ses dérivés, les acides gras essentiels, les céramides, les huiles essentielles, l'acide salicylique et ses dérivés.

Selon l'invention la composition peut associer au moins un extrait d'au moins une bactérie filamenteuse non photosynthétique à d'autres agents actifs destinés notamment à la prévention et/ou au traitement des affections cutanées. Parmi ces 20 agents actifs, on peut citer à titre d'exemple :

- les agents diminuant la différenciation et/ou la prolifération et/ou la pigmentation cutanée tels que l'acide rétinoïque et ses isomères, le rétinol et ses esters, la vitamine D et ses dérivés, les oestrogènes tels que l'oestradiol, l'acide kojique ou l'hydroquinone ;
- les antibactériens tels que le phosphate de clindamycine, l'érythromycine ou les antibiotiques de la classe des tétracyclines ;
- les antiparasitaires, en particulier le métronidazole, le crotamiton ou les pyréthrinoïdes ;
- les antifongiques, en particulier les composés appartenant à la classe des imidazoles tels que l'éconazole, le kéroconazole ou le miconazole ou leurs sels, les composés polyènes, tels que l'amphotéricine B, les composés de la famille des allylamines, tels que la terbinafine, ou encore l'octopirox ;
- les agents antiviraux tels que l'acyclovir ;
- les agents anti-inflammatoires stéroïdiens, tels que l'hydrocortisone, le valérate de bétaméthasone ou le propionate de clobétasol ou *les agents anti-inflammatoires non-stéroïdiens tels que définis par ailleurs dans le texte comme par exemple l'ibuprofène et ses sels, le diclofénac et ses sels, l'acide*

acétylsalicylique, l'acétaminophène ou l'acide glycyrrhétinique ;

- les agents anesthésiques tels que le chlorhydrate de lidocaïne et ses dérivés ;

5 - les agents antiprurigineux comme la thénaldine, la triméprazine ou la cyproheptadine ;

- les agents kératolytiques tels que les acides  $\alpha$ - et  $\beta$ -hydroxycarboxyliques ou  $\beta$ -cétocarboxyliques, leurs sels, amides ou esters et plus particulièrement les hydroxyacides tels que l'acide glycolique, l'acide lactique, l'acide salicylique, l'acide citrique et de manière générale les acides de fruits, et l'acide n-octanoyl-5-salicylique ;

10 - les agents anti-radicaux libres, tels que l' $\alpha$ -tocophérol ou ses esters, les superoxyde dismutases, certains chélatants de métaux ou l'acide ascorbique et ses esters ;

- les antiséborrhéiques tels que la progestérone ;

15 - les antipelliculaires comme l'octopirox ou la pyritthione de zinc ;

- les antiacnéiques comme l'acide rétinoïque ou le peroxyde de benzoyle.

Ainsi, selon un mode particulier, la composition selon l'invention comprend également au moins un agent choisi parmi les agents antibactériens,

20 antiparasitaires, antifongiques, antiviraux, anti-inflammatoires, antiprurigineux, anesthésiques, kératolytiques, anti-radicaux libres, anti-séborrhéiques, antipelliculaires, antiacnéiques et/ou les agents diminuant la différenciation et/ou la prolifération et/ou la pigmentation cutanée.

25 Selon un aspect particulier de l'invention la composition contenant au moins un extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique et au moins un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation est destinée à traiter les désordres du système nerveux central, les troubles respiratoires, les syndromes allergiques, 30 l'inflammation, la douleur, les désordres gastro-intestinaux, les désordres cutanés, les fibroses, les troubles de la maturation du collagène, les troubles cardio-vasculaires, les troubles vasospastiques, les désordres immunologiques ou encore les troubles du tractus urinaires.

35 Selon un aspect plus particulier de l'invention, cette composition cosmétique ou pharmaceutique est destinée à prévenir et/ou à lutter contre les irritations cutanées et/ou les dartres et/ou les érythèmes et/ou les sensations d'échauffement et/ou de dysesthésie et/ou les prurits de la peau et/ou les

muqueuses.

- Du fait du caractère apaisant des composés compris dans la composition selon l'invention, cette dernière peut comprendre en outre au moins un produit à effet irritant utilisé couramment dans le domaine cosmétique ou pharmaceutique, produit qui est éventuellement un actif cosmétique ou pharmaceutique. Ainsi, l'effet irritant est atténué fortement, voire supprimer.
- Cela permet en outre d'augmenter la quantité de principe actif à effet irritant par rapport à la quantité de principe actif normalement utilisée, en vue d'une efficacité améliorée.

- Comme produits à effet irritant, on peut citer par exemple les tensioactifs (ioniques ou non-ioniques), les conservateurs, les solvants organiques ou les actifs comme les  $\alpha$ -hydroxy-acides (acide citrique, malique, glycolique, tartrique, mandélique, lactique), les  $\beta$ -hydroxyacides (l'acide salicylique et ses dérivés), les  $\alpha$ -céto-acides, les  $\beta$ -cétoacides, les rétinoïdes (rétilol, rétinal, acide rétinoïque), les anthralines (dioxyanthranol), les anthranoïdes, les peroxydes (notamment de benzoyle), le minoxidil, les sels de lithium, les antimétabolites, la vitamine D et ses dérivés, les teintures ou colorants capillaires (paraphénylenediamine et ses dérivés, les aminophénols), les solutions alcooliques parfumantes (parfums, eaux de toilette, après rasage, déodorants), les agents antitranspirants (certains sels d'aluminium), les actifs dépilatoires ou de permanentes (thiols), les actifs dépigmentants (hydroquinone).
- L'emploi de l'association d'au moins un extrait d'au moins une bactérie filamenteuse non photosynthétique et d'au moins un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation permet notamment de multiplier de 2 à 10 fois la quantité de principe actif à effet irritant par rapport à l'état de la technique, sans ressentir tous les inconforts mentionnés ci-dessus. Ainsi, on peut utiliser les hydroxyacides jusqu'à 50 % du poids de la composition ou les rétinoïdes jusqu'à 5 %, en diminuant notamment leur caractère irritant.
- La présente invention a en outre pour objet un procédé de traitement cosmétique en vue de diminuer l'effet irritant d'une composition cosmétique, caractérisé par le fait que l'on applique sur la peau, sur les cheveux, et/ou sur les muqueuses, une composition telle que décrite ci-dessus.

Le procédé de traitement cosmétique de l'invention peut être mis en oeuvre notamment en appliquant les compositions hygiéniques ou cosmétiques telles que définies ci-dessus, selon la technique d'utilisation habituelle de ces compositions ; par exemple : application de crèmes, de gels, de sérum, de lotions, de laits de démaquillage ou de compositions anti-solaires sur la peau ou sur les cheveux secs, application d'une lotion pour cheveux sur cheveux mouillés, de shampoings, ou encore application de dentifrice sur les gencives.

Les exemples et compositions suivants illustrent l'invention sans la limiter aucunement. Dans les compositions les proportions indiquées sont des pourcentages en poids, sauf mention contraire.

Exemple 1 : Préparation d'un extrait de *Vitreoscilla filiformis* :

La souche de *Vitreoscilla filiformis* (ATCC 15551) est mise en culture selon le procédé décrit dans la demande de brevet WO-A-93-00741. La culture s'effectue à 26°C durant au moins 48 heures jusqu'à l'obtention d'une concentration cellulaire convenable correspondant à une densité optique à 600 nm supérieure ou égale à 1,5. On repique la souche à 2 % V/V dans du milieu neuf toutes les 48 heures jusqu'à l'obtention d'une culture stable. Un Erlenmeyer de 1 litre contenant 200 ml de milieu neuf est alorsensemencé avec 4 ml de la culture précédente.

La culture en Erlenmeyer s'effectue à 26° C sur une table de culture agitée à 100 tours/minutes. Le pied de cuve ainsi obtenu sert d'inoculum à un fermenteur de 10 l. La croissance s'effectue à 26° C, pH 7, 100 tours/minute et pO<sub>2</sub> ≥ 15 %. Après 48 heures de croissance, la biomasse est transférée dans un fermenteur de 600 litres utiles, pour être cultivée dans les mêmes conditions. Après 48 H de croissance on récolte les cellules. La biomasse est alors concentrée 50 fois environ par centrifugation.

Le concentré est autoclavé à 121° C durant 40 minutes. Après refroidissement 2 phases apparaissent. La phase liquide surnageante est alors filtrée à 0,22 µm pour éliminer les particules. Cet extrait est utilisable en l'état (forme aqueuse) ou peut être lyophilisé suivant les techniques classiques (forme lyophilisée).

Exemple 2 :

5 Exemples de formulations illustrant l'invention et particulièrement les compositions selon l'invention associant au moins un extrait *Vitreoscilla filiformis* et un produit à effet irritant. Ces compositions ont été obtenues par simple mélange des différents composants.

Composition 1 : Lotion démaquillante pour le visage

Extrait de l'exemple 1	1,00
10 Chlorure de strontium	5,00
Antioxydant	0,05
Isopropanol	40,00
Conservateur	0,30
Eau	qsp 100 %

15

Composition 2 : Gel pour le soin du visage

Extrait de l'exemple 1	0,50
Eau thermale de Vichy	10,00
Hydroxypropylcellulose (Klucel H vendu par la société Hercules)	1,00
20 Antioxydant	0,05
Isopropanol	40,00
Conservateur	0,30
Eau	qsp 100 %

25

Composition 3 : Crème de soin du visage (émulsion huile dans eau)

Extrait de l'exemple 1	1,00
Auranofine	0,10
Stéarate de glycérol	2,00
Polysorbate 60 (Tween 60 vendu par la société ICI)	1,00
30 Acide stéarique	1,40
Triéthanolamine	0,70
Carbomer	0,40
Fraction liquide du beurre de karité	12,00
Perhydrosqualène	12,00
35 Antioxydant	0,05
Conservateur	0,30
Eau	qsp 100 %

Composition 4 : Shampooing

	Extrait de l'exemple 1	0,50
	Chlorure de strontium	5,00
	Hydroxypropylcellulose (Klucel H vendu par la société Hercules)	1,00
5	Conservateur	0,30
	Eau	qsp 100 %

Composition 5 : Lotion pour éliminer les cicatrices dues à l'acné

	Extrait de l'exemple 1	1,00
10	HOE140	0,05
	Acide glycolique	50,00
	Hydroxypropylcellulose (Klucel H vendu par la société Hercules)	0,05
	NaOH	qsp pH = 2,8
	Ethanol	qsp 100 %
15	Conservateur	0,30

Composition 6 : Gel pour le traitement de l'acné

	Extrait de l'exemple 1	2,00
	CGRP 8-37	0,5
20	Acide tout trans rétinoïque	0,05
	Hydroxypropylcellulose (Klucel H vendu par la société Hercules)	1,00
	Antioxydant	0,05
	Isopropanol	40,00
	Conservateur	0,30
25	Eau	qsp 100 %

Composition 7 : Gel anti-douleur

	Extrait de l'exemple 1	0,50
	Spantide II	0,05
30	Hydroxypropylcellulose (Klucel H vendu par la société Hercules)	1,00
	Antioxydant	0,05
	Chlorhydrate de lidocaïne	2,00
	Isopropanol	40,00
	Conservateur	0,30
35	Eau	qsp 100 %

Composition 8 : Crème de soin de l'érythème solaire (émulsion huile-dans-eau)

	Extrait de l'exemple 1	1,00
	Eau thermale de Vichy	10,00
	Stéarate de glycérol	2,00
5	Polysorbate 60 (Tween 60 vendu par la société ICI)	1,00
	Acide stéarique	1,40
	Acide glycyrrhétinique	2,00
	Triéthanolamine	0,70
	Carbomer	0,40
10	Fraction liquide du beurre de karité	12,00
	Huile de tournesol	10,00
	Antioxydant	0,05
	Parfum	0,5
	Conservateur	0,30
15	Eau	qsp 100 %

Composition 9 : Crème de soin antirides pour le visage (émulsion huile/eau)

	Extrait de l'exemple 1	1,00
	Lactoferine	1,00
20	Stéarate de glycérol	2,00
	Polysorbate 60 (Tween 60 vendu par la société ICI)	1,00
	Acide stéarique	1,40
	Acide n-octanoyl-5-salicylique	0,50
	Triéthanolamine	0,70
25	Carbomer	0,40
	Fraction liquide du beurre de karité	12,00
	Perhydrosqualène	12,00
	Antioxydant	0,05
	Parfum	0,5
30	Conservateur	0,30
	Eau	qsp 100 %

## REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique ou pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend, dans un milieu cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable,  
5 un extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique et un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation à l'exception des agents anti-inflammatoires stéroïdiens et non-stéroïdiens.
- 10 2. Composition selon la revendication 1, caractérisée par le fait que le composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation est un composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation cutanée.
- 15 3. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 2, caractérisée par le fait que ladite bactérie appartient à l'ordre des Beggiatoales.
4. Composition selon la revendication 3, caractérisée par le fait que ladite bactérie appartient au genre *Beggiatoa*, *Vitreoscilla*, *Flexithrix* ou *Leuothrix*.
- 20 5. Composition selon la revendication 4, caractérisée par le fait que ladite bactérie est choisie parmi des souches de *Vitreoscilla filiformis*.
- 25 6. Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que l'extrait d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique est en une quantité représentant de 0,0001% à 5% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,001% à 1% du poids total de la composition.
- 30 7. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée par le fait que l' extract d'au moins une bactérie filamentuse non photosynthétique est en une quantité représentant de 0,0001% à 10% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 5% du poids total de la composition.
- 35 8. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que le composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation est choisi parmi les

antagonistes de substance P et/ou de CGRP, les inhibiteurs de NO-synthase, les antagonistes de bradykinine, les antagonistes de cytokines, les antagonistes d'histamine, les antagonistes du facteur de nécrose tumorale de type  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ).

5        9. Composition selon la revendication 8, caractérisée par le fait que l'antagoniste  
de substance P est choisi parmi les substances assurant une diminution de  
l'extravasation du plasma au travers de la paroi vasculaire induite par la  
capsaicine ou par une stimulation nerveuse antidromique et les substances  
provoquant une inhibition de la contraction des muscles lisses induites par  
10      l'administration de substance P.

15      10. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que  
l'antagoniste de substance P est choisi parmi les peptides, les composés  
comprenant au moins un hétérocycle, les composés azotés comprenant au moins  
un cycle benzénique, les sels de cations monovalents, divalents et trivalents, les  
eaux thermales et leurs mélanges.

20      11. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que le  
peptide est le sendide ou le spantide II.

25      12. Composition selon la revendication 10, caractérisée par le fait que le composé  
comprenant au moins un hétérocycle est un composé hétérocyclique azoté  
oxygéné ou soufré choisi parmi les dérivés de 2-tricyclyl-2-amino-éthane, les  
dérivés de spiro lactame, les dérivés de quinuclidine, les dérivés azacycliques, les  
dérivés d'aminopyrrolidine, les dérivés de pipéridine, les aminoazahétérocycles,  
les dérivés d'isoindole, les dérivés du furane, les dérivés du benzofurane, les  
dérivés du thiophène et les dérivés du benzothiophène, et notamment les  
tétrazolyl-benzofuranne-carboxamides ou les tétrazolyl-benzothiophène-  
carboxamides.

30      13. Composition selon la revendication 10, caractérisée par le fait que le sel est  
choisi parmi les chlorures, carbonates, bicarbonates, salicylates, borates, nitrates,  
hydroxydes, sulfates, persulfates, les sels d'acides de fruits, les sels d'acides  
aminés et les sels d'acides gras de baryum, magnésium, strontium, d'yttrium, , de  
35      gadolinium, de manganèse, de zinc et/ou de cobalt.

14. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que le  
sel est choisi parmi les sels de strontium.

15. Composition selon la revendication 10, caractérisée par le fait que l'eau thermale est une eau provenant d'une source du bassin de Vichy.
16. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'eau thermale provient des sources Célestins, Chomel, Grande-Grille, Hôpital, Lucas et Parc.
  17. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'eau thermale provient de la source Lucas.
18. Composition selon la revendication 8, caractérisée par le fait que l'antagoniste de CGRP est choisi parmi les substances assurant une diminution de la vasodilatation induite par la capsaïcine ou par une stimulation électrique antidromique (appliquée sur un nerf afférent) et/ou une inhibition de la libération de CGRP par les fibres nerveuses sensitives et les substances provoquant une inhibition de la contraction du muscle lisse du vas deferens induite par le CGRP.
19. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'antagoniste de CGRP est choisi parmi le CGRP 8-37 (séquence des acides aminés 8 à 37 de la partie N-terminale du CGRP) ou les anticorps anti-CGRP.
20. Composition selon la revendication 8, caractérisée par le fait que l'inhibiteur de NO-synthase est choisi parmi les substances qui permettent *in situ* sur l'homme d'inhiber partiellement, voire totalement, la synthèse de monoxyde d'azote (NO).
21. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'inhibiteur de NO-synthase est choisi parmi les composés inhibant la synthèse et/ou accélérant le catabolisme de la NO-synthase, les composés neutralisant la NO-synthase ou les composés intervenant en diminuant le signal transduit par la NO-synthase.
22. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'inhibiteur de la NO-synthase est choisi parmi des peptides, synthétiques ou naturels, éventuellement modifiés, des molécules chimiques, synthétiques ou naturelles, des acides nucléiques antisens, des ribozymes, des anticorps anti-NO-synthase.

23. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'inhibiteur de la NO-synthase est choisi parmi la N<sup>G</sup>-monométhyl-L-arginine (L-NMMA), la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, l'ester méthylé de la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, le chlorure de diphenylèneiodonium, la 7-nitroindazole, la N(5)-(1-iminoéthyl)-L-ornithine, la N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-diméthyl-L-arginine, la N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-diméthyl-arginine, le [2-(4-carboxyphényle)]-4,4,5,5-tetraméthylimidazoline-1-oxyl-3-oxyde, l'aminoguanidine, la canavanine, l'ebselen et l'hormone stimulatrice des mélanocytes de type  $\alpha$ .
- 5
- 10 24. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'inhibiteur de la NO-synthase est la N<sup>G</sup>-monométhyl-L-arginine et l'hormone stimulatrice des mélanocytes de type  $\alpha$ .
- 15 25. Composition selon la revendication 8, caractérisée par le fait que l'antagoniste de la bradykinine est choisi parmi les composés inhibant la synthèse et/ou accélérant le catabolisme de la bradykinine, les composés neutralisant la bradykinine, les composés bloquant les récepteurs de la bradykinine des composés bloquant les récepteurs de la bradykinine tels que ceux qui interfèrent avec les effets de la bradykinine par leur fixation au récepteur de celle-ci (B1 ou B2), les composés inhibant la synthèse des récepteurs de la bradykinine ou les composés intervenant en diminuant le signal transduit par la bradikinine.
- 20
- 25 26. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'antagoniste de la bradykinine est choisi parmi des peptides, synthétiques ou naturels, éventuellement modifiés, des molécules chimiques, synthétiques ou naturelles, des acides nucléiques antisens, des ribozymes, des anticorps anti-bradykinines, des récepteurs solubles de la bradykinine, des anticorps anti-récepteurs de la bradykinine ou des antagonistes des récepteurs de la bradykinine.
- 30
27. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'antagoniste de la bradykinine est choisi parmi les composés qui interfèrent avec les effets de la bradykinine par leur fixation au récepteur de celle-ci (B1 ou B2) et préférentiellement au récepteur B2.
- 35
28. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'antagoniste de la bradykinine est choisi parmi la D-Arg-[Hyp3, D-Phe7]-bradykinin (NPC567), la [Thi 5, 8, D-Phe7]-bradykinin, la D-Arg, [Hyp3, Thi5,8, D-

Phe7]-bradykinin, la N- $\alpha$ -adamantaneacetyl-D-Arg-[Hyp3, Thi5,8, D-Phe7]-bradykinin, la des-Arg9, [Leu8]-bradykinin, la P-guanidobenzoyl-[Hyp3,Thi5,D-Tic7,Oic8]-bradykinin (S 16118), la D-Arg-[Hyp3, Thi5, D-Tic7,Oic8]-bradykinine (HOE 140), la D-Arg-[Hyp3, D-Hype (trans-propyl)7 Oic8]-bradykinin (NPC 17731).

29. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'antagoniste de la bradykinine est la D-Arg-[Hyp3, Thi5, D-Tic7,Oic8]-bradykinine (HOE 140).

10 30. Composition selon la revendication 8, caractérisée par le fait que l'antagoniste d'histamine, de cytokines ou de TNF- $\alpha$  est une substance choisie parmi les antagonistes réceptoriels d'histamine, de cytokines ou de TNF- $\alpha$ , ou parmi les antagonistes de la libération et/ou de la synthèse d'histamine, de cytokines ou de 15 TNF- $\alpha$ .

20 31. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que la substance choisie parmi les antagonistes réceptoriels d'histamine, de cytokines ou de TNF- $\alpha$  est une substance ayant une affinité sélective pour les récepteurs spécifiques de ces composés ou assurant une inhibition de la contraction des muscles lisses induites par l'administration d'histamine ou assurant une inhibition de l'adhésion de macrophages induite par les cytokines sur les cellules endothéliales ou une inhibition de la libération d'anions superoxydes induite par les cytokines sur les neutrophiles ou une inhibition de l'adhésion de macrophages 25 induite par TNF- $\alpha$  sur les cellules endothéliales ou une inhibition de la libération d'anions superoxydes induite par TNF- $\alpha$  sur les neutrophiles ou inhibition de l'activité mitogène du TNF- $\alpha$  sur les fibroblastes du derme.

30 32. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que l'antagoniste réceptoile d'histamine est choisi parmi les dérivés de la diéthylène diamine comme la Cinnarizine, la cyclizine ; les dérivés de l'aminopropane comme la dexchloro-phéniramine, la tripolidine ; les dérivés de phénothiazine comme la prométhazine, l'alimémazine ; ainsi que les composés cités pages 116 à 118 du livre Joseph R. Prous, The Year's Drug News, Therapeutic Targets, 35 édition 1994, Prous Science Publishers comme la cétirizine HCl, l'ébastine, la loratadine, la sébastine HCl.

33. Composition selon la revendication 30, caractérisée par le fait que l'antagoniste de libération de l'histamine est choisi parmi des composés hétérocycliques oxygénés ou soufrés tels que les dérivés du furanne, les dérivés du benzofuranne, les dérivés du thiophène et les dérivés du benzothiophène,  
5 comportant éventuellement des substituants azotés, préférentiellement les alcoxy- et/ou aryloxy- tétrazol-yl-benzofuranne-carboxamides ou les alcoxy- et/ou aryloxy-tétrazol-yl-benzothiophène-carboxamides.
34. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait que  
10 l'inhibiteur de libération de l'histamine est choisi parmi le 5-méthoxy-3-phénoxy-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 5-méthoxy-3-(1-méthyléthoxy)-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 6-méthoxy-3-(1-méthyléthoxy)-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 5-méthoxy-3-(1-méthyléthyl)-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le  
15 3-benzyloxy-5-méthoxy-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide, le 5-méthoxy-3-phénoxy-N-1H-tétrazol-5-yl-benzothiophène-2-carboxamide.
35. Composition selon la revendication 30, caractérisée par le fait que l'antagoniste de cytokines est choisi parmi les antagonistes de la libération de  
20 l'interleukine 1 comme l'auranofine ou le SKF-105809 ou les antagonistes de la synthèse d'interleukine 1 comme la lactoféride.
36. Composition selon la revendication 30, caractérisée par le fait que l'antagoniste réceptoïel de TNF- $\alpha$  et les inhibiteurs de la libération et/ou de la  
25 synthèse de TNF- $\alpha$  sont choisis parmi la lisophyline, l'A802715, la sulfasalazine.
37. Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que le composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation est en une  
30 quantité représentant de 0,001% à 5% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 2% du poids total de la composition.
38. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à  
35 36, caractérisée par le fait que le composé diminuant la synthèse, la libération et/ou l'activité d'au moins un médiateur de l'inflammation est en une quantité représentant de 0,001% à 10% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 5% du poids total de

la composition.

39. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, destinée à traiter les désordres du système nerveux central, les troubles respiratoires, les syndromes allergiques, l'inflammation, la douleur, les désordres gastro-intestinaux, les désordres cutanés, les fibroses, les troubles de la maturation du collagène les troubles cardio-vasculaires, les troubles vasospastiques, les désordres immunologiques et/ou les troubles du tractus urinaires.
- 10 40. Composition selon la revendication précédente, destinée à prévenir et/ou lutter contre les irritations cutanées et/ou les dartres et/ou les érythèmes et/ou les sensations dysesthésiques et/ou les sensations d'échauffement et/ou les prurits de la peau et/ou les muqueuses.
- 15 41. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend, dans un milieu cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable, au moins un produit à effet irritant.
- 20 42. Procédé de traitement cosmétique, caractérisé par le fait que l'on applique sur la peau, sur les cheveux et/ou sur les muqueuses une composition telle que définie dans l'une quelconque des revendications 1 à 41.

## REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

2746642  
N° d'enregistrement  
national

FA 527987  
FR 9603818

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	EP-A-0 681 831 (L'OREAL) 15 Novembre 1995 * le document en entier * ---	1-7, 37-42
A	GB-A-2 034 687 (NESTLE SA) * le document en entier * ---	1-7, 37-42
A	FR-A-2 283 223 (SYNTHELABO SA) * le document en entier * ---	1-7, 37-42
A	FR-A-2 693 654 (L'OREAL) * le document en entier * ---	1-7, 37-42
A	EP-A-0 692 247 (L'OREAL) 17 Janvier 1996 * le document en entier * ---	1-7, 37-42
A	FR-A-2 283 223 (SYNTHELABO) * le document en entier * ---	1-7, 37-42
A	EP-A-0 680 749 (L'OREAL) 8 Novembre 1995 * le document en entier * -----	1,8-12, 37-42
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (InCLe) A61K
1	Date d'achèvement de la recherche 9 Décembre 1996	Examinateur Couckuyt, P
<b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b> X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'un moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non écrite P : document intercalaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

